

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 591.1+591.5:599

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИОЛОГО- БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ГРЫЗУНОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИЕЙ

**Е. А. Хижкин¹, Е. П. Антонова¹, В. А. Илюха^{1,2}, Л. Б. Узенбаева¹,
Т. Н. Ильина¹, И. В. Баишникова¹, В. В. Белкин¹, Д. В. Шведов²**

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Петрозаводский государственный университет

Проведено сравнительное изучение возрастных изменений ряда физиолого-биохимических показателей у природно-адаптированных (ондатра) и не адаптированных (лабораторная крыса) к дефициту кислорода животных. Максимальные межвидовые различия ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы (АОС) и уровня энергообеспечения отмечены в тканях сердца и почек. Направленность возрастных изменений различалась у исследуемых видов. АОС крыс в онтогенезе характеризовалась рассогласованием работы сопряженных антиоксидантных ферментов (АОФ) – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, а также компенсаторными изменениями уровня неферментативного антиоксиданта – витамина Е. У ондатры отмечалось выраженное повышение активности АОФ в сердце и почках – молодая ондатра (2–3 месяца) имела более низкую удельную активность СОД и каталазы, чем животные 5–6-месячного возраста. У последних активность АОФ достигала уровня, характерного для взрослых животных (12 и более месяцев). Были выявлены межвидовые различия клеточного состава крови. В ходе онтогенеза размеры эритроцитов и лейкоцитов у крыс увеличиваются, а у ондатры – уменьшаются, что, по нашему мнению, способствует улучшению реологических свойств крови и является приспособлением к полуводному образу жизни. У ондатры возрастные изменения изоферментного спектра лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентрации витамина Е в исследованных органах и лейкоформулы выражены слабее, чем у крыс.

Ключевые слова: ондатра; крыса; онтогенез; адаптация; антиоксидантные ферменты; лактатдегидрогеназа; витамин Е; лейкоциты; эритроциты.

**E. A. Khizhkin, E. P. Antonova, V. A. Ilyukha, L. B. Uzenbaeva, T. N. Ilyina,
I. V. Baishnikova, V. V. Belkin, D. V. Shvedov. AGE-RELATED CHANGES
OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RODENTS
WITH DIFFERENT ECOLOGICAL SPECIALIZATIONS**

We performed a comparative study of age-related changes in some physiological parameters of the muskrat, which can dive and is therefore well adapted to the lack of oxygen,

and in the non-diving laboratory rat. The analysis revealed considerable interspecies differences in the antioxidant systems and the energy supply levels in the heart and kidney tissues. Age-related variations of the studied values differed between the species. The results showed an imbalance in the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase, as well as a compensatory change in the level of such a non-enzymatic antioxidant as vitamin E in rats during aging. The muskrat demonstrated a marked age-related increase of the activity of antioxidant enzymes in heart and kidneys. A young second-generation muskrat had lower specific SOD and catalase activities compared to first-generation animals, which exhibited the same levels as adults. We identified interspecies differences in the differential blood leukocyte counts. During the ontogeny, the size of erythrocytes and leukocytes increased in rats, but decreased in muskrats, which appears to be necessary to improve the blood rheological properties and facilitate the adaptation to semi-aquatic lifestyle. Age-related changes in the tissue isozyme spectrum of lactate dehydrogenase, tissue concentration of vitamin E and in leukograms were less pronounced in muskrats compared to laboratory rats.

Key words: muskrat; rat; ontogeny; adaptation; antioxidant enzymes; lactate dehydrogenase; vitamin E; leukocytes; erythrocytes.

Введение

В процессе эволюции у млекопитающих, перешедших к полуводному образу жизни, сформировался ряд физиологических и биохимических механизмов, позволяющих амфибионтам противостоять дефициту кислорода в организме (гипоксия) при плавании под водой в течение продолжительного времени [Галанцев, 1977]. Недостаток кислорода способен приводить к продукции избытка кислородных радикалов, превышающего возможности антиоксидантной системы [Elsner et al., 1998; Gottlieb, 2003]. Стратегия защиты от окислительного стресса, связанного с гипоксией-реоксигенацией при нырянии, включает у вторичноводных млекопитающих повышение активности АОФ в тканях жизненно важных органов [Elsner et al., 1998; Коваленко, Молчанов, 2001]. Существует мнение, что антиоксидантные ферменты СОД и каталаза принимают участие не только в регуляции уровня свободнорадикального окисления, но и в поддержании аэробных процессов метаболизма во время задержек дыхания под водой [Галанцев и др., 1977], хотя такая возможность ставится под сомнение другими авторами [Иванов, 1993]. При этом необходимо учитывать и другие компенсаторные изменения функциональных систем, в частности, количественный состав и размерные характеристики лейкоцитов крови ныряющих животных, влияющих на ее реологические свойства, состав и количественную вариабельность изоферментов ЛДГ, обеспечивающих специфические для каждого вида животных и типа тканей обменные процессы.

Однако выявлению возрастных особенностей физиологических и метаболических

перестроек у полуводных млекопитающих уделяется крайне мало внимания. Особенности развития в ходе онтогенеза адаптивных механизмов, обеспечивающих животному продолжительное пребывание под водой, могут быть выявлены при сравнительном исследовании физиологической специфики у таксономически близких полуводных и наземных видов отряда Грызуны (*Rodentia*).

Целью настоящей работы было сравнительное изучение возрастных изменений физиолого-биохимических показателей у эволюционно адаптированных к дефициту кислорода ондатр (*Ondatra zibethicus* L.) и неадаптированных лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* Berk.).

Материалы и методы

Самцы и самки крыс ($n = 10$) содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении Карелии. Выборка включала по пять животных в возрасте 6 и 18 месяцев (осенний период). Самцы и самки ондатр ($n = 24$) были отловлены 15–17 октября 2011 г. на оз. Миккельское в окрестностях п. Эссойла (Карелия). Выборка состояла из животных первой генерации, рожденных в конце весны 2011 года ($n = 11$; возраст 5–6 месяцев), второй генерации, рожденных летом 2011 года ($n = 1$; возраст 2–3 месяца), и взрослых животных ($n = 12$; возраст более 12 месяцев).

Использовали ткани сердца, испытывающего значительную по сравнению с другими органами функциональную нагрузку при нырянии [Шмидт-Ниельсен, 1982; Hochachka, Somero, 2002], и почек, как органа, секретирующего эритропоэтин, который стимулирует эритропоэз [Козинец и др., 2001].

Образцы тканей животных отбирали после декапитации, замораживали и хранили до проведения анализа при $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Гомогенаты тканей (навеска 80–90 мг) готовили в 2 мл 0,05 М фосфатного буферного раствора ($\text{pH} = 7,0$), после чего центрифугировали при 6000 g в течение 15 мин и в супернатанте определяли активность СОД по модифицированной адренохромной методике [Misra, Fridovich, 1972], а каталазы – по количеству разложенной H_2O_2 [Bears, Sizer, 1952]. За одну условную единицу активности СОД принимали 50-процентное торможение автоокисления адреналина в адренохром. Активность каталазы выражали в количестве H_2O_2 , разложенной за одну минуту. Содержание белка определяли по методу Лоури [Lowry et al., 1951]. В качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин. Активность ферментов рассчитывали на 1 г сырой ткани и 1 мг белка. Концентрацию витамина Е определяли методом ВЭЖХ [Скурихин, Двинская, 1989]. Разделение изоферментов лактатдегидрогеназы осуществляли методом горизонтального электрофореза на пластинках агарового геля с последующим окрашиванием [Райдер, Тейлор, 1983]. После сканирования электрофореграмм содержание каждого изофермента выражали в процентах от общей ферментативной активности. Для микроскопического исследования крови на предварительно обезжиренных предметных стеклах готовили мазки по общепринятой методике. Лейкоцитарную формулу крови подсчитывали общепринятым способом [Справочник..., 1975], размеры лимфоцитов и эритроцитов – с использованием компьютерной системы анализа изображений «Видеотест».

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики, сравнение проводили с применением непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни, степень различий между изученными группами оценивали с помощью кластерного анализа [Коровов, Горбач, 2007].

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП НО Института биологии КарНЦ РАН с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [Этическая экспертиза..., 2005].

Результаты и обсуждение

Обнаружено, что в сердце у взрослых крыс происходило снижение активности СОД и повышение – каталазы. В почках у взрослых особей активность СОД не изменялась, тогда как активность каталазы была достоверно выше по сравнению с 6-месячными животными (табл. 1).

Выявленное нами увеличение активности каталазы является следствием усиленного образования перекиси водорода, источниками которого в организме помимо реакции дисмутации супероксид-иона, катализируемого СОД, являются реакции, катализируемые различными оксидазами [Меньщикова и др., 2006]. Известно, что большие концентрации H_2O_2 способны ингибировать каталитическую активность СОД и в некоторых случаях приводить к взаимодействию данного фермента с H_2O_2 , инициируя образование радикалов O_2^- и $\cdot\text{OH}$

Таблица 1. Активность АОФ и концентрация витамина Е в органах у крыс и ондатр разных возрастов

	Крысы		Juv	Ондатры	
	Ad1	Ad2		Ad1	Ad2
Сердце					
СОД (усл. ед./мг белка)	2,01 ± 0,58	1,01 ± 0,24	2,58	4,06 ± 0,28♠	3,85 ± 0,17♦
Каталаза (мкМ H_2O_2 /мин/мг белка)	0,39 ± 0,023	0,65 ± 0,16	0,90	1,19 ± 0,09♠	1,21 ± 0,06♦
Витамин Е (усл. ед./мг ткани)	12,42 ± 1,86	30,80 ± 8,66*	3,62	7,75 ± 0,64♠	8,87 ± 0,40♦
Почки					
СОД (усл. ед./мг белка)	1,81 ± 0,38	1,70 ± 0,28	3,82	3,93 ± 0,28♠	4,32 ± 0,38♦
Каталаза (мкМ H_2O_2 /мин/мг белка)	1,11 ± 0,15	2,00 ± 0,19*	1,65	2,12 ± 0,24♠	2,12 ± 0,15
Витамин Е (усл. ед./мг ткани)	15,16 ± 1,89	7,70 ± 2,00*	4,58	4,07 ± 0,33♠	4,89 ± 0,23

Примечание. Здесь и на рис. 1: Juv – ондатра второй генерации (2–3 месяца), Ad1 – молодые животные (5–6 месяцев), Ad2 – взрослые животные (>12 месяцев); * – различия достоверны по сравнению с молодыми животными у одного вида, ♠ – межвидовые различия у молодых животных достоверны, ♦ – межвидовые различия у взрослых животных достоверны.

[Зенков и др., 2001]. Генерация избытка активных форм кислорода, на наш взгляд, может являться причиной повышения уровня витамина E в сердце у взрослых крыс по сравнению с молодыми (см. табл. 1). Увеличение концентрации токоферола в этом органе при рассогласовании работы сопряженных АОФ выступает в качестве защитного механизма от индуцируемого гидроксильным радикалом перекисного окисления липидов. Изменение концентрации витамина E в органах возможно либо при поступлении его извне, либо за счет перераспределения между органами. Вероятно, увеличение уровня токоферола в сердце у взрослых крыс обусловлено снижением его концентрации в почках у этих животных (см. табл. 1).

В сердце и в почках у ондатр отмечена тенденция повышения удельной активности АОФ в первые 6 месяцев развития животных. У молодых ондатр (2–3 месяца) активность и СОД, и каталазы была ниже, чем у 5–6-месячных животных. При этом активность ферментов АОС у последних уже достигала уровня, характерного для взрослых животных (см. табл. 1). В ходе индивидуального развития изменений концентрации витамина E ни в сердце, ни в почках ондатр выявлено не было. Следует отметить, что в каждом отдельном возрастном периоде уровень активности исследованных ферментов в органах был выше, а концентрация витаминов ниже у ондатр, испытывающих периодическую кратковременную гипоксию. Вероятно, у этих животных главная роль в защите от усиленного образования АФК принадлежит ферментам АОС, а не низкомолекулярным антиоксидантам.

Количественную вариабельность компонентов изоферментного спектра ЛДГ можно рассматривать как внутриклеточную специализацию биохимических функций, направленную на обеспечение максимальной адаптации животных к условиям окружающей среды [Ночасчка, Somero, 2002]. В сердце и почках у крыс обеих возрастных групп соотношение фракций характеризовалось высоким содержанием ЛДГ1 и ЛДГ2 и малым количеством ЛДГ4 и ЛДГ5. При этом в сердечной мышце у взрослых животных, по сравнению с 6-месячными, было выявлено усиление синтеза изофермента ЛДГ2 (рис. 1). Такое соотношение фракций ЛДГ свидетельствует о преобладании преобразования лактата в пируват, который может служить источником для поддержания аэробного типа обмена на высоком уровне в сердце взрослых животных. Описанные метаболические сдвиги могут сопровождаться усилением генерации АФК, что, наряду со снижением активности СОД

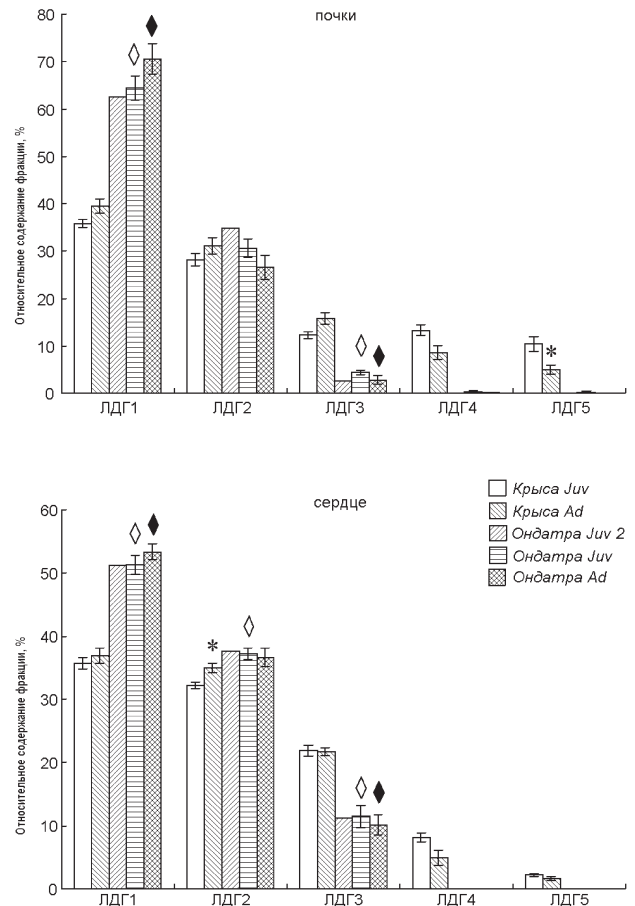


Рис. 1. Изоферментный спектр ЛДГ в органах у крыс и ондатр разных возрастов

в этом органе у взрослых крыс, может приводить к повреждению кардиомиоцитов.

В почках и в сердце ондатр, по сравнению с не адаптированными к периодической гипоксии крысами, отмечено более высокое содержание фракции ЛДГ1 и небольшое количество остальных фракций (см. рис. 1). При этом в сердце у полуводных животных изоферменты ЛДГ4 и ЛДГ5 вовсе отсутствовали. Значительных возрастных изменений изоферментного спектра ЛДГ в исследованных органах у ондатр выявлено не было, однако отмечено некоторое повышение содержания ЛДГ1 и в почках и в сердце у взрослых животных.

В результате кластерного анализа исследованных показателей выделено две группы (рис. 2): в одну из них вошли ондатры разных возрастов (вид, испытывающий функциональную нагрузку на организм, связанную с дефицитом кислорода при нырянии), в другую – не адаптированные к кратковременной гипоксии крысы. Межвидовые различия по изученным показателям были почти в два раза выше, чем внутригрупповые (возрастные между молодыми и взрослыми животными). Учитывая онтогенетические изменения АОС и ЛДГ, можно



Рис. 2. Дендрограмма сходства разных возрастных групп двух видов по показателям активности АОФ, концентрации витамина Е и изоферментному спектру ЛДГ в почках и сердце

заключить, что у молодых ондатр (2–3 месяца) происходит процесс становления этих систем, который завершается уже к 5–6-му месяцу развития.

Наряду с приспособительным перераспределением кровотока [Галанцев, 1977], адаптация к нырянию у околотовных млекопитающих связана также с изменениями клеточного состава крови. В нашем исследовании у ондатр, независимо от их возраста, в крови было выявлено преобладание нейтрофилов, среди которых максимальный уровень отмечен для сегментоядерных клеток (табл. 2). Сходное количественное соотношение лейкоцитов у животных, природно-адаптированных к гипоксии, было выявлено в исследованиях В. П. Галанцева и коллег [1993, 1994]. Показано, что повышение уровня нейтрофилов у ондатр является компенсаторной реакцией этих животных на ныряние ввиду наличия высокой прооксидантной активности миелопероксидазы в клетках

этого типа. Напротив, у крыс лейкоцитарная формула имела лимфоидный профиль (см. табл. 2). Следует отметить, что у крыс в возрасте 6 и 18 месяцев поддерживается характерный для них физиологический уровень лимфоцитов ($76,00 \pm 2,17\%$ и $76,60 \pm 2,04\%$ соответственно) и сегментоядерных нейтрофилов ($17,60 \pm 2,11\%$ и $10,60 \pm 0,75\%$ соответственно). При этом у взрослых животных, по сравнению с молодыми, в клеточном составе крови выявлено уменьшение содержания сегментоядерных и возрастание уровня палочкоядерных нейтрофилов. Также в крови у взрослых крыс были обнаружены естественные киллеры, проявляющие цитотоксические свойства в отношении ряда клеток-мишеней – большие гранулярные лимфоциты (см. табл. 2).

Размеры лимфоцитов и эритроцитов имели межвидовые различия. Так, площадь лейкоцитов у молодых ондатр выше, а у взрослых

Таблица 2. Лейкоцитарная формула крыс и ондатр

	Крысы		Ондатры	
	Ad1	Ad2	Ad1	Ad2
Моноциты	$2,60 \pm 0,76$	$5,00 \pm 0,87$	$5,50 \pm 0,97\phi$	$5,67 \pm 1,44$
Лимфоциты	$76,00 \pm 2,42$	$76,60 \pm 2,28$	$30,83 \pm 5,89\phi$	$31,33 \pm 7,17\phi$
Палочкоядерные нейтрофилы	$0,40 \pm 0,27$	$4,40 \pm 1,10^*$	$14,33 \pm 3,75\phi$	$15,44 \pm 2,83\phi$
Сегментоядерные нейтрофилы	$17,60 \pm 2,36$	$10,60 \pm 0,84^*$	$47,50 \pm 5,53\phi$	$46,11 \pm 6,19\phi$
Эозинофилы	$3,40 \pm 1,10$	$3,20 \pm 1,08$	$1,50 \pm 1,05$	$1,33 \pm 0,85$
Базофилы	0	$0,20 \pm 0,22$	0	$0,11 \pm 0,12$
Большие гранулярные лимфоциты	0	$3,40 \pm 1,60$	$0,33 \pm 0,37$	0

Примечание. Здесь и на рис. 3, 4: Ad1 – молодые животные (5–6 месяцев), Ad2 – взрослые животные (>12 месяцев); * – различия достоверны по сравнению с молодыми животными, ϕ – различия достоверны между видами

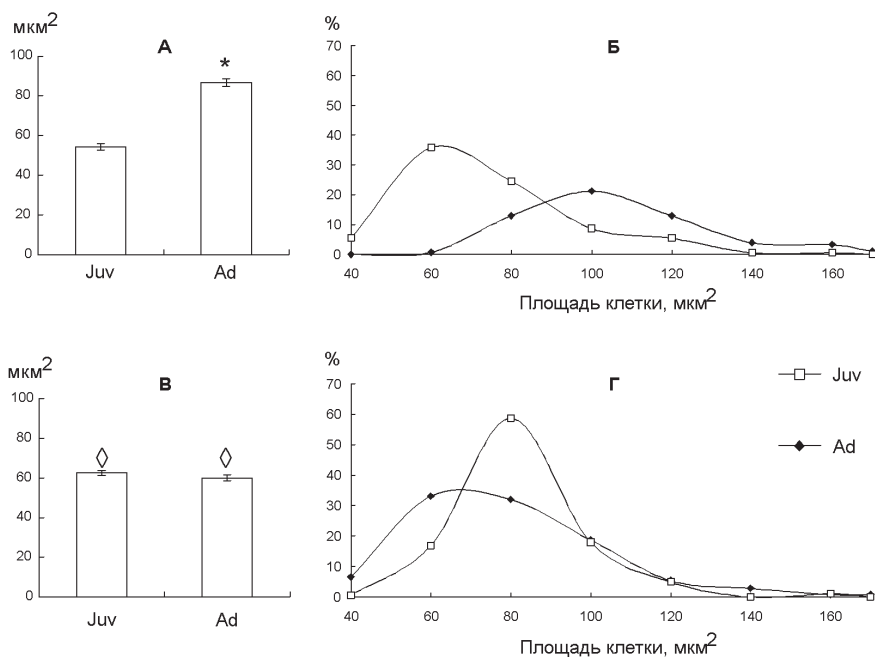


Рис. 3. Размеры лимфоцитов в периферической крови крыс (А, Б) и ондатр (В, Г) разного возраста

ниже, чем у крыс соответствующих возрастов (рис. 3). В ходе онтогенеза у ондатр площадь лимфоцитов не изменялась. При этом если у молодых ондатр преобладали клетки больших размеров (70–90 мкм²), то у взрослых животных – маленькие лимфоциты (50–80 мкм²). Размеры клеток красной крови ондатр обеих возрастных групп были значительно больше по сравнению с не адаптированными к нырянию крысами (рис. 4). В постнатальном онтогенезе у ондатр площадь эритроцитов уменьшалась.

Молодые особи имели клетки несколько больших размеров (45–55 мкм²) по сравнению со взрослыми животными (35–45 мкм²). В отличие от ондатр у крыс при старении наблюдалось увеличение размеров исследованных клеток крови, а также количества больших клеток у взрослых животных (см. рис. 3 и 4). Важной особенностью клеток крови у ондатр, как у полуводного вида, по нашему мнению, является преобладание у взрослых животных лимфоцитов и эритроцитов небольших размеров, тогда

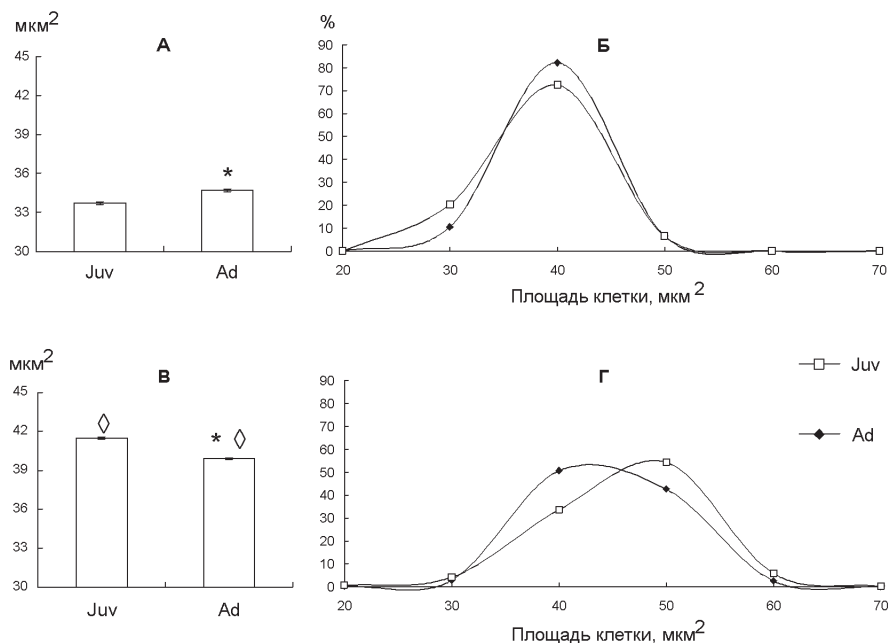


Рис. 4. Размеры эритроцитов периферической крови крыс (А, Б) и ондатр (В, Г) разного возраста

как у крыс такие клетки характерны для молодых животных.

Сравнительный анализ возрастных изменений физиологических показателей у млекопитающих с различной экологической специализацией позволил выявить ряд особенностей, присущих природно-адаптированной к кратковременной гипоксии ондатре. Установлено, что у ондатры второй генерации (2–3 месяца) активность исследованных ферментов АОС и содержание изофермента ЛДГ1 в сердце и в почках были несколько ниже по сравнению с более взрослыми животными. Однако уже у ондатр 5–6 месяцев не выявлено различий со взрослыми особями по этим показателям. При этом как у молодых, так и у взрослых ондатр активность АОФ и уровень ЛДГ1 в обоих органах были значительно выше, чем у не адаптированных к гипоксии крыс соответствующих возрастов. Необходимо отметить, что максимальная продолжительность ныряния у крыс составляет всего 2 минуты, что значительно меньше 12 минут, зарегистрированных для ондатр [Irving, 1939]. В отличие от последних у крыс выявленные возрастные изменения АОС и изоферментного спектра ЛДГ свидетельствуют о «старении» этих физиологических систем.

По мнению Р. А. МакАртура с соавторами, длительность погружений ондатр существенно не увеличивается с возрастом, и одно-двухмесячные молодые ондатры имеют схожую со взрослыми продолжительность ныряния [MacArthur et al., 2001]. Однако другими исследователями [Hindle et al., 2006] было выявлено, что способность ондатр к длительным погружениям с возрастом усиливается – молодые ондатры второй генерации значительно меньше находятся под водой, чем животные первой генерации и взрослые особи. Молодые ондатры более зависимы от анаэробного метаболизма, и при нырянии у них наблюдается большее количество коротких погружений, чем у взрослых. Кроме того, молодые особи отличаются более низким уровнем различных показателей, обеспечивающих высокую интенсивность аэробного метаболизма (уровень гемоглобина, насыщение крови кислородом, гематокрит, общий легочный объем, концентрация миоглобина в скелетной мускулатуре, тканевый уровень кислорода) [MacArthur et al., 2001, 2003]. Возрастные изменения всех этих физиологических параметров, а также выявленные нами онтогенетические особенности становления АОС и изоферментного спектра ЛДГ, по нашему мнению, связаны с продолжительностью ныряния, и их можно рассматривать как адаптивный механизм, обеспечивающий увеличение

длительности пребывания ондатр под водой с возрастом.

Реакция крыс и ондатр на кратковременное гипоксическое воздействие имеет ряд принципиальных отличий. Так, было установлено [Martin et al., 2002], что в почках у крыс, содержащихся при пониженной концентрации O_2 (5–6 %) в течение 25 минут, наряду с повышением активности СОД усиливается экспрессия генов, кодирующих антиоксидантные ферменты – цитоплазматической СОД, каталазы и глутатионредуктазы. В исследовании В. П. Галанцева с коллегами [Галанцев и др., 1994] отмечается, что перекисное окисление липидов в сердце у крыс имеет тенденцию к усилению при брадикардии, вызванной задержкой дыхания, а у ондатр, напротив, уменьшается на 30 %, активность каталазы при этом у последних увеличивается почти в 2 раза. Авторы считают, что такие изменения могут являться механизмом, обеспечивающим защиту от свободнорадикальных повреждений. В результате у адаптированных к водному образу жизни млекопитающих тканевая гипоксия развивается в более поздние сроки, чем у неадаптированных видов. В отличие от крыс, у ондатр при задержке дыхания в ткани сердца увеличивается содержание как лактата, так и пирувата, соотношение лактат/пируват при этом не изменяется. Это свидетельствует об активации в сердце у природно-адаптированных к гипоксии животных различных как анаэробных, так и аэробных путей получения энергии [Галанцев и др., 1994].

Однако изучение соотношения изоферментов ЛДГ в сердце ондатр позволяет нам несколько скорректировать это утверждение. Высокое содержание ЛДГ1 и отсутствие фракций ЛДГ4 и ЛДГ5 может являться причиной обнаруженного авторами [Галанцев и др., 1994] повышения уровня пирувата в сердечной мышце. Следует также учитывать, что предпочтительным субстратом для работы сердца является не глюкоза, а молочная кислота, приносимая кровью от других органов. Можно предположить, что усиленное образование пировиноградной кислоты приводит к возрастанию использования ныряющими млекопитающими аэробных биоэнергетических механизмов.

Увеличение активности каталазы при гипоксии в сердечной мышце может быть связано с важной сигнальной ролью перекиси водорода в кровеносной системе. Существует доказательство того, что млекопитающие обладают как минимум двумя H_2O_2 -сенсорами, один из которых находится в нейроэпителиальных тельцах легкого и отвечает за сужение или

расширение дыхательных путей, а другой выполняет ту же функцию применительно к кровеносным сосудам, находясь в клетках каротидного синуса [Wang et al., 1996; Скулачев, 2001]. Следует отметить, что сигнал на сужение дыхательных путей и сосудов возникает при повышении концентрации H_2O_2 независимо от причины, вызвавшей данное повышение. К этому может приводить не только рост концентрации O_2 в крови из-за уменьшения потребления кислорода тканями, но и активация продукции H_2O_2 или торможение ее расщепления [Скулачев, 2001]. Возможно, именно для быстрого удаления перекиси водорода, которая в данном случае выступает как сигнальная молекула, и необходима столь высокая активность каталазы в сердце. Исходя из этого, можно утверждать, что более высокая активность каталазы и низкий уровень ПОЛ у ондатр по сравнению с крысами является адаптацией к нырянию.

Известно, что в общем комплексе физиологических адаптаций к гипоксии важную роль имеют приспособительные сердечно-сосудистые реакции, проявляющиеся в изменении биоэлектрической активности сердца и морфологии кровеносного русла (централизация кровотока и вазоконстрикция на периферии). Наряду с этим адаптация к нырянию у полуводных животных связана с изменением клеточного состава крови [Галанцев и др., 1994]. Сравнительный анализ возрастных изменений лейкоцитарной формулы крови у неадаптированных и адаптированных к гипоксии животных показал, что как молодые, так и взрослые ондатры характеризовались более высоким содержанием сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов и низким числом лимфоцитов по сравнению с крысами. Немаловажным является и то, что у взрослых ондатр в крови преобладают более мелкие клетки. Очевидно, что выявленное нами уменьшение с возрастом размеров клеток крови у испытывающих периодическую гипоксию ондатр необходимо для улучшения реологических свойств крови и также является приспособлением к полуводному образу жизни.

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что все выявленные у ондатры возрастные изменения адаптивных признаков служат для увеличения продолжительности ныряния. При этом повышение с возрастом активности СОД и особенно каталазы в сердце и почках необходимо рассматривать как механизм, обеспечивающий посредством

H_2O_2 -сенсоров регуляцию состояния кровеносных сосудов в этих органах для перераспределения кровотока при погружении под воду и всплытии. Увеличение относительного содержания ЛДГ1 в изоферментном спектре у взрослых животных свидетельствует об усилении аэробных биоэнергетических процессов – лактат является более предпочтительным субстратом по сравнению с глюкозой для изученных органов, а его превращение в пируват, катализируемое изоферментом ЛДГ1, приводит к более эффективному получению энергии. Кроме этого, пируват наряду с каталазой может выполнять защитную функцию по предотвращению автоокисления кислородсвязывающих белков в организме [Olek et al., 2005]. Изменение клеточного состава лейкоцитов и уменьшение размеров эритроцитов и лейкоцитов в онтогенезе направлено на оптимизацию реологических свойств крови и обеспечение периферических тканей кислородом при сужении кровеносных сосудов во время ныряния.

У крыс наблюдаемые онтогенетические изменения физиологических систем связаны преимущественно с поддержанием гомеостаза исследованных органов и организма в целом у стареющих и старых животных, а их направленность отличается от таковой, наблюдаемой у ондатр.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента НШ-1410.2014.4, средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (темы № 50.1, № г. р. 01201358732) и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

Авторы выражают признательность сотрудникам лаборатории зоологии ИБ КарНЦ РАН К. Ф. Тирронену и Д. В. Панченко, а также студентам ПетрГУ В. Л. Ульякову и С. И. Блинову за помощь в отлове животных в природе.

Литература

Галанцев В. П. Эволюция адаптаций ныряющих животных. Эколого- и морфофизиологические аспекты. Л.: Наука, 1977. 191 с.

Галанцев В. П., Коваленко С. Г., Гуляева Е. П. и др. Особенности метаболизма у водных и полуводных млекопитающих при асфиксии // Вестник Санкт-Петербургского университета. 1993. Сер. 3, вып. 1, № 3. С. 73–80.

Галанцев В. П., Камардина Т. А., Коваленко Р. И. Реакции сердечно-сосудистой системы и биоэнергетический метаболизм в связи с адаптацией

к апноэ // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 1994. Т. 80, № 9. С. 117–123.

Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК; Наука; Интерпериодика, 2001. 343 с.

Иванов К. П. Основы энергетики организма: теоретические и практические аспекты. Т. 2. Биологическое окисление и его обеспечение кислородом. СПб.: Наука, 1993. 272 с.

Коваленко Р. И., Молчанов А. А. Биохимические механизмы адаптации вторичноводных амниот // Нервная система. 2001. Вып. 34. С. 154–193.

Козинец Г. И., Высоцкий В. В., Погорелов В. М. и др. Кровь и инфекция. М.: Триада-фарм, 2001. 456 с.

Коросов А. В., Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных: методическое пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2007. 76 с.

Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.

Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. М.: Мир, 1983. 197 с.

Скулачев В. П. H₂O₂-сенсоры легких и кровеносных сосудов и их роль в антиоксидантной защите организма // Биохимия. 2001. Т. 66, № 10. С. 1425–1429.

Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α-токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сельскохозяйственная биология. 1989. № 4. С. 127–129.

Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Под ред. Е. А. Кост. М.: Наука, 1975. 583 с.

Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. Книга 1 / Пер. с англ. М. Д. Гроздовой, Г. И. Рожковой; под ред. и с предисл. Е. М. Крепса. М.: Мир, 1982. 416 с.

Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации / Под ред. Ю. Б. Белоусова. М.: Об-во клин. исслед., 2005. 156 с.

Bears R. F., Sizer I. N. A spectral method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // J. Biol. Chem. 1952. Vol. 195, No 1. P. 133–140.

Elsner R., Oyaseter S., Almaas R., Saugstad O. D. Diving seals, ischemia-reperfusion and oxygen

radicals // Comp. Biochem. Physiol. 1998. Vol. 119A, No 4. P. 975–998. doi: 10.1016/S1095-6433(98)00012-9.

Gottlieb R. A. Mitochondrial signaling in apoptosis: mitochondrial daggers to the breaking heart // Basic Res. Cardiol. 2003. Vol. 98, No 4. P. 242–249. doi: 10.1007/s00395-003-0404-0.

Hindle A. G., Senkiw R. W., MacArthur R. A. Body cooling and the diving capabilities of muskrats (*Ondatra zibethicus*): A test of the adaptive hypothermia hypothesis // Comp. Biochem. Physiol. 2006. Vol. 144A. P. 232–241. doi:10.1016/j.cbpa.2006.03.001.

Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation: mechanisms and process in physiological evolution. N. Y.: Oxford University Press, 2002. 466 p.

Irving L. Respiration in diving mammals // Physiol. Rev. 19, 1939. P. 112–134.

Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, No 1. P. 265–275.

MacArthur R. A., Humphries M. M., Fines G. A., Campbell K. L. Body oxygen stores, aerobic dive limits, and the diving abilities of juvenile and adult muskrats (*Ondatra zibethicus*) // Physiol. Biochem. Zool. 2001. Vol. 74. P. 178–190.

MacArthur R. A., Weseen G. L., Campbell K. L. Diving experience and the aerobic dive capacity of muskrats: does training produce a better diver? // J. Exp. Biol. 2003. Vol. 206. P. 1153–1161. doi:10.1242/jeb.00221.

Martin R., Fitzl G., Mozet C. et al. Effect of age and hypoxia/reoxygenation on mRNA expression of antioxidative enzymes in rat liver and kidneys // Exp. Gerontology. 2002. Vol. 37. P. 1479–1485. doi: 10.1016/S0531-5565(02)00168-7.

Misra H. H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. 1972. Vol. 247. P. 3170–3175.

Olek R. A., Antosiewicz J., Popinigis J. et al. Pyruvate but not lactate prevents NADH-induced myoglobin oxidation // Free Radical Biology & Medicine. 2005. Vol. 38. P. 1484–1490.

Wang D., Youngson C., Wong V. et al. NADPH-oxidase and a hydrogen peroxide-sensitive K⁺ channel may function as an oxygen sensor complex in airway chemoreceptors and small cell lung carcinoma cell lines // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93. P. 13182–13187.

Поступила в редакцию 10.03.2015

References

Galantsev V. P. Jevoljucija adaptacij nyrjajushhij zhiivotnyh. Jekologo- i morfofiziolicheskie aspekty [The evolution of adaptations of the diving animal. Ecological and morphophysiological aspects]. Leningrad: Nauka, 1977. 191 p.

Galantsev V. P., Kovalenko S. G., Gulyaeva E. P., Kamardina T. A., Kovalenko R. I., Kuz'min D. A., Molchanov A. A. Osobennosti metabolizma u vodnykh i poluvodnykh

mlekoopitayushchikh pri asfiksii [Some peculiarities of metabolism in aquatic and semiaquatic mammals under asphyxia]. Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta [Vestnik of St. Petersburg Univ.] 1993. Ser. 3, iss. 1, No 3. P. 73–80.

Galantsev V. P., Kamardina T. A., Kovalenko R. I. Reakcii serdechno-sosudistoj sistem i bioenergeticheskij metabolizm v svjazi s adaptaciej k apnoje [Cardiovascular

system reactions and bioenergy metabolism in relation to adaptation to apnea]. *Fiziol. zhurn. im. I. M. Sechenova* [I. M. Sechenov Physiological Journal]. 1994. Vol. 80, No 9. P. 117–123.

Ivanov K. P. Osnovy jenergetiki organizma: teoreticheskie i prakticheskie aspekty. T. 2. Biologicheskoe okislenie i ego obespechenie kislorodom [The principles of energetics in organisms: theoretical and practical aspects. Vol. 2. Biological oxidation and oxygen supply]. St. Petersburg: Nauka, 1993. 272 p.

Jeticheskaja jekspertiza biomedicinskih issledovanij. Prakticheskie rekomendacii [Ethical review of biomedical research. Best practices]. Ed. Ju. B. Belousova. Moscow: Ob-vo klin. issled., 2005. 156 p.

Kovalenko R. I., Molchanov A. A. Biohimicheskie mehanizmy adaptacii vtorichnovodnyh amniot [Biochemical mechanisms of adaptation of the secondary aquatic amniotes]. *Nervnaja sistema* [Nervous system]. 2001. Iss. 34. P. 154–193.

Kozinec G. I., Vysockij V. V., Pogorelov V. M., Erovičenkova A. A., Malov V. A. Krov' i infekcija [Blood and infection]. Moscow: Triada-farm, 2001. 456 p.

Korosov A. V., Gorbach V. V. Komp'juternaja obrabotka biologicheskikh dannyh: metodicheskoe posobie [Computer-aided processing of biological data: manual]. Petrozavodsk: PetrGU, 2007. 76 p.

Men'shchikova E. B., Lankin V. Z., Zenkov N. K., Bondar' I. A., Krugovyh N. F., Trufakin V. A. Okislitel'nyj stress. Prooksidanty i antioksidanty [Oxidative stress. Pro-oxidants and antioxidants]. Moscow: Slovo, 2006. 556 p.

Rajder K., Tejlor K. Izofermenty [Isozymes]. Moscow: Mir, 1983. 197 p.

Shmidt-Niel'sen K. Fiziologiya zhivotnykh. Prispoblenie i sreda. Kn. 1 [Animal physiology. Adaptation and environment. Book 1]. Transl. from Engl. M. D. Grozdova, G. I. Rozhkovoi; ed., foreword by E. M. Krepsa. Moscow: Mir, 1982. 416 p.

Skulachev V. P. H₂O₂-sensory legkih i krovenosnyh sosudov i ih rol' v antioksidantnoj zashhite organizma [H₂O₂ sensors of lungs and blood vessels and their role in the antioxidant defense of the body]. *Biohimija* [Biochemistry]. 2001. Vol. 66, No 10. P. 1425–1429.

Skurihin V. N., Dvinskaja L. M. Opredelenie α -tokoferola i retinola v plazme krovi sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh metodom mikrokolonochnoj vysokojeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii [Measuring α -tocopherol and retinol in blood plasma of farm animals using microcolumn high performance liquid chromatography]. *Sel'skohozjajstvennaja biologija* [Agricultural Biology]. 1989. No 4. P. 127–129.

Spravochnik po klinicheskim laboratornym metodam issledovanija [Handbook of clinical laboratory methods of research]. Ed. E. A. Kost. Moscow: Nauka, 1975. 583 p.

Zenzov N. K., Lankin V. Z., Men'shchikova E. B. Okislitel'nyj stress: Biohimicheskij i patofiziolicheskij aspekty [Oxidative stress: biochemical and

pathophysiological aspects]. Moscow: MAIK; Nauka; Interperiodika, 2001. 343 p.

Bears R. F., Sizer I. N. A spectral method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* 1952. Vol. 195, No 1. P. 133–140.

Elsner R., Oyaseter S., Almaas R., Saugstad O. D. Diving seals, ischemia-reperfusion and oxygen radicals. *Comp. Biochem. Physiol.* 1998. Vol. 119A, No 4. P. 975–998. doi:10.1016/S1095-6433(98)00012-9.

Gottlieb R. A. Mitochondrial signaling in apoptosis: mitochondrial daggers to the breaking heart. *Basic Res. Cardiol.* 2003. Vol. 98, No 4. P. 242–249. doi: 10.1007/s00395-003-0404-0.

Hindle A. G., Senkiw R. W., MacArthur R. A. Body cooling and the diving capabilities of muskrats (*Ondatra zibethicus*): A test of the adaptive hypothermia hypothesis. *Comp. Biochem. Physiol.* 2006. Vol. 144A. P. 232–241. doi:10.1016/j.cbpa.2006.03.001.

Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation: mechanisms and process in physiological evolution. N. Y.: Oxford University Press, 2002. 466 p.

Irving L. Respiration in diving mammals. *Physiol. Rev.* 19, 1939. 112–134.

Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, No 1. P. 265–275.

MacArthur R. A., Humphries M. M., Fines G. A., Campbell K. L. Body oxygen stores, aerobic dive limits, and the diving abilities of juvenile and adult muskrats (*Ondatra zibethicus*). *Physiol. Biochem. Zool.* 2001. Vol. 74. P. 178–190.

MacArthur R. A., Weseen G. L., Campbell K. L. Diving experience and the aerobic dive capacity of muskrats: does training produce a better diver? *J. Exp. Biol.* 2003. Vol. 206. P. 1153–1161. doi:10.1242/jeb.00221.

Martin R., Fitzl G., Mozet C., Martin H., Welt K., Wieland E. Effect of age and hypoxia/reoxygenation on mRNA expression of antioxidative enzymes in rat liver and kidneys. *Exp. Gerontology.* 2002. Vol. 37. P. 1479–1485. doi:10.1016/S0531-5565(02)00168-7.

Misra H. H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972. Vol. 247. P. 3170–3175.

Olek R. A., Antosiewicz J., Popinigis J., Gabbianelli R., Fedeli D., Falcioni G. Pyruvate but not lactate prevents NADH-induced myoglobin oxidation. *Free Radical Biology & Medicine.* 2005. Vol. 38. P. 1484–1490.

Wang D., Youngson C., Wong V., Yeger H., Dinauer M. C., Vega-Saenz de Miera E., Rudy B., Cutz E. NADPH-oxidase and a hydrogen peroxide-sensitive K⁺ channel may function as an oxygen sensor complex in airway chemoreceptors and small cell lung carcinoma cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 13182–13187.

Received March 10, 2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хижкин Евгений Александрович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: hizhkin84@mail.ru
тел.: (8142) 573107

Антонова Екатерина Петровна

младший научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: antoonkina@rambler.ru

Илюха Виктор Александрович

заведующий лабораторией экологической физиологии
животных, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: ilyukha@bio.krc.karelia.ru

Узенбаева Людмила Борисовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: uzenb@bio.krc.karelia.ru

Ильина Татьяна Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: ilyina@bio.krc.karelia.ru

Баишникова Ирина Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: iravbai@mail.ru

Белкин Владимир Васильевич

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vladimir-belkin@inbox.ru

Шведов Дмитрий Владимирович

Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
студент эколого-биологического факультета
эл. почта: sawa-wv2@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Khizhkin, Evgeny

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: hizhkin84@mail.ru
tel.: (8142) 573107

Antonova, Ekaterina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: antoonkina@rambler.ru

Ilyukha, Viktor

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ilyukha@bio.krc.karelia.ru

Uzenbaeva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: uzenb@bio.krc.karelia.ru

Ilyina, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ilyina@bio.krc.karelia.ru

Baishnikova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: iravbai@mail.ru

Belkin, Vladimir

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: vladimir-belkin@inbox.ru

Shvedov, Dmitry

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sawa-wv2@yandex.ru